DOI:10.11931/guihaia.gxzw201808015

海南龙血树WD40转录因子基因*DcWD40-1*的克隆和表达分析

朱家红[1]，夏栋楠[2]，王颖[1]，郭冬[1]，李辉亮[1]，梅文莉[1]，彭世清[1*]

(1. 中国热带农业科学院热带作物生物技术研究所，海口 571101; 2. 海南大学热带农林学院 ，海口 570228)

摘 要：海南龙血树是国产血竭的主要基源植物，其血竭主要化学成分为类黄酮化合物。目前对血竭的研究集中在化学成分及药理活性分析，对血竭形成的分子机制并不了解。WD40转录因子在类黄酮的积累中具有重要的调控作用。本研究根据海南龙血树转录组数据，利用RT-PCR技术在海南龙血树中克隆了一个WD40基因*DcWD40-1*，该基因包含一个1 353 bp的开放阅读框，编码450个氨基酸，蛋白质分子量50.77 kD，理论等电点5.71。生物信息学分析显示，DcWD40-1属于WD40蛋白家族成员，具有5个保守的WD40结构域，和其他植物WD40蛋白同源性高，保守性强。利用Genome Walking方法分离了1 503 bp的*DcWD40-1*启动子序列，该区域具有典型真核生物启动子结构特征，并含有多个应答激素和胁迫的响应元件。表达分析显示，血竭诱导剂能够诱导*DcWD40-1*的表达，*DcWD40-1*的变化与血竭形成及类黄酮积累正相关。此外，*DcWD40-1*也能对茉莉酸甲酯、细胞分裂素、油菜素内酯和UV-B处理做出积极响应。本结果为进一步研究DcWD40-1在类黄酮生物合成中的潜在功能和作用机制奠定基础。

关键词：海南龙血树，血竭，类黄酮，WD40转录因子，基因表达

Cloning and expression analysis of WD40 transcription factor *DcWD40-1* from *Dracaena cambodiana*

ZHU Jiahong[1], XIA Dongnan[2], WANG Ying[1], Guo Dong[1], Li Huiliang[1], Mei Wenli[1], Peng Shiqing[1*]

(1.*Institute of Tropical Biosciences and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences*, Haikou 571101, China; 2. *Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University*, Haikou 570228, China*)*

Abstract: Hainan Dragon trees (*Dracaena cambodiana*) are the main plant resources of dragon's blood in China, and the main chemical constituents of the dragon’s blood from which are flavonoids. The recent studies about dragon's blood mainly focus on the chemical constituents and pharmacological activities, while the molecular

---

基金项目：海南省自然科学基金 (318MS093)；国家自然科学基金(81773845) [Supported by Natural Science Foundation of Hainan Province (318MS093); the National Natural Science Foundation of China (81773845)]。

作者简介：朱家红(1982-)，男，安徽颍上人，博士，副研究员，主要从事植物次生代谢物形成与调控，(E-mail) hjzhu1010@163.com。

[*]**通信作者：**彭世清，博士，研究员，主要从事植物次生代谢物形成与调控，(E-mail) sqpeng@163.com。

mechanisms of dragon's blood formation remain unknown. WD40 transcription factor plays an important role in flavonoid accumulation. In this study, a WD40 gene named *DcWD40-1* was cloned in *Dracaena cambodiana* based on transcriptome data and RT-PCR technology. The full-length of cDNA of *DcWD40-1* was 1 550 bp, containing 1 353 bp opening reading frame (ORF), and encoding 450 amino acids with the calculated molecular weight of 50.77 kD and calculated pI 5.71. Bioinformatics analysis showed that DcWD40-1 belonged to a member of WD40 superfamily, had five conserved WD40 domains, and shared high identities to WD40 proteins from other plants. A 1503 bp-length promoter region of *DcWD40-1* was isolated by Genome Walking method, which had structural characteristics of typical eukaryotic promoters. The promoter region of *DcWD40-1* contained lots of hormone responsible elements, such as abscisic acid -responsive element, auxin-responsive element, salicylic acid -responsive element and jasmonic acid -responsive element; also had many cis acting elements related stress such as light, cold, hot, and anaerobic inducer. Expression analysis showed that *DcWD40-1* was induced by dragon's blood inducers, positively related to flavonoids accumulation and formation of dragon's blood. In addition, *DcWD40-1* can also respond positively to jasmonic acid, cytokinin, brassinosteroid and UV-B treatment. These results will lay the foundation for further study of the potential functions and mechanisms of DcWD40-1 in flavonoid biosynthesis in *Dracaena cambodiana*.

Key word: *Dracaena cambodiana*, dragon's blood, flavonoids, WD40 transcription factor, gene expression

血竭是一种传统名贵中药，具有活血化瘀、消炎镇痛和止血生肌等功效 (Gupta et al, 2008; Wang et al, 2011)。海南龙血树 (*Dracaena cambodiana*)是国产血竭的基源植物 (郑道君等, 2009; Wang et al, 2013)。前期研究表明海南龙血树血竭中的主要化学成分以类黄酮化合物为主(Chen et al, 2012; Zheng et al, 2012; Wang et al, 2017)。海南龙血树及其血竭中的类黄酮化合物具有多种生物学活性，如抗癌、抗肿瘤、抗炎、抗真菌、凝血酶抑制和抗增殖活性等(Luo et al, 2011; Mei et al, 2013; Wang et al, 2017).。目前人们对血竭的化学成分、药理活性及临床应用的研究较多，但对类黄酮积累和血竭形成机制并不了解 (Zhu et al, 2016)。

植物类黄酮生物合成主要受结构基因(编码类黄酮生物合成的各种酶类)和调节基因(转录因子)的控制 (Tohge et al, 2017)。WD40 转录因子可与 MYB 和 bHLH 转录因子互作形成 MBW 复合体协同调控多个结构基因的表达，参与类黄酮的生物合成(Xu et al, 2015)。WD40 蛋白是真核生物中普遍存在的蛋白家族之一， 在进化中高度保守，通常含有多个由 40～60 个氨基酸残基组成的 WD40 重复基序 (Xu & Min, 2011)。目前参与类黄酮合成相关的 WD40 基因已在多种植物中得到分离与鉴定，如拟南 *TTG1* (Baudry et al, 2004)、苹果 *MdTTG1* (An

et al, 2012)、杨梅 *MrWD40-1*(Liu et al, 2013)、柿 *DkWDR1* (Naval et al, 2016)、石榴 *PgWD40* (Bensimhon et al, 2011)、苦荞麦 *FtWD40* (Yao et al, 2017)、西红柿 *SlAN11* (Gao et al, 2018)，但在海南龙血树中还未见 WD40 类转录因子的报道。

在先前的研究中，项目组采用“无机盐诱导剂输液法”专利技术对海南龙血树进行诱导产生了血竭，并对血竭的成分及诱导前后的转录组数据进行了分析，推导出类黄酮生物合成途径，并筛选获得一条编码WD40的基因，推测其可能在类黄酮生物合成过程中具有调控作用 (Zhu et al, 2016)。本研究将在此基础上对该基因进行克隆，并分析其时空表达特征，为研究其在类黄酮生物合成中的潜在功能和作用机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1实验材料

实验所需的植物材料海南龙血树种植于中国热带农业科学院生物技术研究所内。使用10%浓度血竭诱导剂通过输液的方法注射海南龙血树茎部，处理后 0、3、6 d 取样，具体参考先前的报道 (Zhu et al, 2016)；选取生长一致的组培苗移置于液体培养基中 7 d 后进行胁迫紫外辐射胁迫(UV-B)处理和叶片喷施 200 μm L^{-1} 茉莉酸(MeJA)、脱落酸(ABA)、细胞分裂素(CTK)和油菜素内酯(BR)处理，处理 0、3、12、24 h 后取样。所有样品采集后，液氮速冻，于-80 ℃保存。

1.2 核酸提取及 cDNA 合成

总 RNA 和 DNA 按照成都福际生物技术有限公司(FOREGENE)的 Plant Total RNA Isolation Kit 试剂盒和 Plant DNA Isolation Kit 提取。总 RNA 按照江苏愚公生命科技有限公司(NOVA® Yugong Biolabs)的 All-in-One First-Strand Synthesis MasterMix (with DNase I)试剂盒的方法反转录为 cDNA。

1.3 *DcWD40-1*的基因及启动子克隆

根据海南龙血树转录组数据中WD40的EST序列，设计5′端特异引物WD40F：5′-CTACAAATTCATGTGAGCGG-3′ 和 3′ 端 引 物 WD40R ：5′-CGGCAGCTCAGCTGCCTACAG-3′， 分别以cDNA为模板对DcWD40-1进行扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定，回收目的条带与pMD19-T载体连接并转化大肠杆菌DH5α，通过菌落PCR鉴定阳性克隆，送诺赛基因公司测序。利用ExPASy在线软件

（https://www.expasy.org/）分析预测蛋白的氨基酸组成、分子式、分子量和等电点；利用PSORT (http://psort1.hgc.jp/form.html)预测亚细胞定位；利用DNAMAN软件进行氨基酸序列比对分析。

利用Clontech公司的Universal Genome Walker 2.0 Kit对*DcWD40-1*的启动子进行克隆。将基因组DNA经*EcoR*V、*Stu*Ⅰ、*Pvu*Ⅱ 和*Dra*Ⅰ等4种内切酶酶切后，在T4连接酶作用下与接头连接。以连接产物为模板，采用接头引物(AP1和AP2，试剂盒提供)和基因特异引物(PWD：5′-TGGAGGTGGTGGGTATTTCG-3′；PWD2：5′-GATACTCGTTGCTGGATTATAGGA-3′)进行两轮PCR扩增。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定，回收目的条带与pMD19-T载体连接并转化大肠杆菌DH5α，通过菌落PCR鉴定阳性克隆，送诺赛基因公司测序。利用在线工具PlantCARE(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)进行启动子元件分析。

1.4 基因表达分析

利用SYBR® Select Master Mix试剂盒在Mx3005P Real-Time PCR System上进行qPCR分析。内参基因为*Actin*，引物序列为qDcACT-F(5′-ACCGAGAGAGGGTACTCATT-3′)，qDcACT-R (5′-CCAGCTCCTGCTCGTAATC-3′)；目的基因引物qWD1-F(5′-GAATGGAGGTGGTGGGTATTT-3′) 和 qWD1-R (5′-TTTGTTTGATGGAGGAGAGAGA -3′)。qPCR反应体积20 μL：10 μL 2×SYBR mix，正反向引物各1 μL (10 μm L^{-1})，1 μL cDNA模板，7 μL ddH$_2$O。 qPCR反应条件：95 ℃ 10 min；95 ℃ 15 s，60 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析基因的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 *DcWD40-1*的克隆

根据在海南龙血树转录组数据中获得的WD40基因的EST序列，设计特异引物对该基因的全长序列进行扩增，获得一条1 500 bp左右的特异条带。将目的片段连接到T载体上进行测序，测序结果与通过转录组测序得到结果一致，将该基因命名为*DcWD40-1*。本研究获得的*DcWD40-1*基因全长1 550 bp，包含一个1 353 bp完整的开放阅读框。

2.2 DcWD40-1的分子特征

DcWD40-1 编码蛋白由 450 个氨基酸组成，其中甘氨酸（Gly）和丝氨酸(Ser) 最多，有40 个，占比达到 8.9%。DcWD40-1 蛋白分子式为 $C_{2238}H_{3412}N_{634}O_{689}S_{17}$，预测分子量为 50.77 kD，理论等电点 5.71。亚细胞定位预测显示 DcWD40-1 定位于微体中可能性最大，达到 71.4%。氨基酸序列分析发现，DcWD40-1 具有植物 WD40 转录因子的结构特征，包含 5 个 WD40

重复基序。DcWD40-1 的氨基酸序列与海枣(*Phoenix_dactylifera*)、油棕(*Elaeis guineensis*)、深圳拟兰(*Apostasia_shenzhenica*)和铁皮石斛(*Dendrobium catenatum*) 中相应 WD40 氨基酸序列的同源性分别为 77.1%、76.9%、75.6%和 74.9%。



注：划线处为WD40基序。

Note: The conserved WD40 domains are underlined.

图1 DcWD40-1与其他植物WD40蛋白氨基酸序列比对

Fi g.1 Alignment of DcWD40-1 and other WD40s form other plants

2.3 *DcWD40-1*启动子的克隆和序列分析

利用Genome Walking方法分离了*DcWD40-1*启动子区1503 bp，该区域具有典型真核生物启动子结构特征，包含多个TATA-box、CAAT-box等基本元件。此外，该启动子序列中含有细胞分裂素响应元件CMRs、脱落酸相应元件ABRE、生长素响应元件TGA-box、水杨酸响应元件TCA-element和茉莉酸响应元件CGTCA- motif等激素响应元件；还有防卫和胁迫响应元件TC-rich repeat、厌氧诱导元件激发子响应元件ARE、热激响应元件HSE和低温响应元件LTR以及多个光相应元件，如3-AF1 binding site、ATCC-motif、ATCT-motif、Box I、GA-motif、G-box SP1、GT1-motif等。这说明上述这些激素和胁迫可能影响*DcWD40-1*的转录水平。

CAATTTTATCATTTTGTTTTTAGCTGTATAACTATTTTAAACATTTATGTATTATTGGCTGTTTGGAATAAGGTTAACTGAATTTTTTTCCTCCTTGTTCAGCACAG

GT1-motif HSE

CCACAGACCCACTTACGCTCTAAGCGTAGTTGTTTTTTTTTTTTTTTCTTTGAATAATTGGTAGTTTGTTTTTTTTCTTTGAATAATTGGACTATGGGTTGCAGGCCC

AAATAAGAGAAAAACCGACCGATCTGAACCGAACAAGAGAAAAACCGATCAATCTGAACCGAACTGAAAATTTAGTTTCCGTTTTCTACGGGCTACGGTTGGT

TTCGGATATGATATTTCGGTTTTGTTTTTTATTGGAATTTTTTCACTCAAATTCAAACTGAACCGATCGATACTCATTCCTGCTTAATTCCGAGAAGCTAAGGA

ARE LTR LTR HSE

TTCAAGTGCAAATATTTTTTTTTTTTAAATTACAGATATTTAAATTACACGTGCTACAATATCTATAATATTATAGAAATAATTTTTGCAATGAAGACTAAAAAATT

ABRE/ G-Box HSE

TTGTGGGCGCTTCTAGAATACCTGCGCTCAGA**TTTGAAA**GCCGGCCCGGCCTGCCA**CGTCA**CTCGGTCGGTTTTGGACAGCGAAAAAAAACATTTCTCTAGA

ATCT-motif Box I ABRE/G-Box/TGA-box CGTCA-motif HSE

GACTTGCCGAACCAAACAAAAAAAAAAGGGATATTTAAAGATTTGTCCTTACATCTTTATAAATTATAATTGAGTCCCTTAAATCTTAATATTTAGATTTAGTCC

3-AF1 binding site CRM

CAATCCTCTAAGTTATTACAATTTAGTCCCTCTCGCTACCTTCCGTTAGCCCAGTATATTTTTTTATCTGATATCCTTCCTTAATTCCTTTTTTCCTCTTCCTCCTCT

ATCC-motif

CTTCTACTTCCCTCTTCCTCCTCTTCTCTCTTCTTTTTCATTCTTCCTCCTCTCTTCTCCTTCCCTCTTCCTTCTCTCTTCTTTTTCATTCTTCCTCTTCTCTTCTCC

GA-motif

TTCCCTCTTCCTCC**CCTCTTCTTA**TTTTTTTCATTCTTCCTCCTTTCTTCTCCTTCCCTCTTCCTCCTCTCTTCTCATTTTTTCATTCTTCATCCTTTCTTCTCCTTCC

SP1 TCA-element TC-rich repeats

CTCTTTCTCCTCTCTTCTCCTTTTCTCTTCTTCCTTTCTTCTCCTTTTCTTTATTGGGTTCATTGGTTCCCCTTTCTTCTTCTCTTCTATCTCTATTCTTTCCCTTTTT

TCA-element GA-motif TCA-element TCA-element

TTCTTTATAAGGGTATTTAAGTCATTTTATTATTAAAAAAAAGTAAAAATTAAATTTTTCCGTTTATTTGGATGGAAAAATTAACGAAGCGACTAAACTGTAGCAA

CTTAGAGGATTTAGGGACTAAATCTAAATATGAAGATTTGGATATAAAGATGTAAGGGACAAAACTGTAAATATCAAAAAAAAAAAAAAAGACTTCGAAACTAAA

CRM CRM

AAAAAGAAAAGAAAAAACAATCAAGTAAAAGAGAACACGGAATC**CCGAAA**AAGATTTCTAATTATTTATTACTCGCATCATCTAATCTAATCTCCTACAA

LTR HSE ATCT-motif

ATTCATGTGAGCGGGCGGCATCACCTCAACTTTGCTTTTGCTTCTCTCGATGATTATCTATTATCAATAGATACTCGTTGCTGGATTATAGGATAGAGC**ATG**TCGA

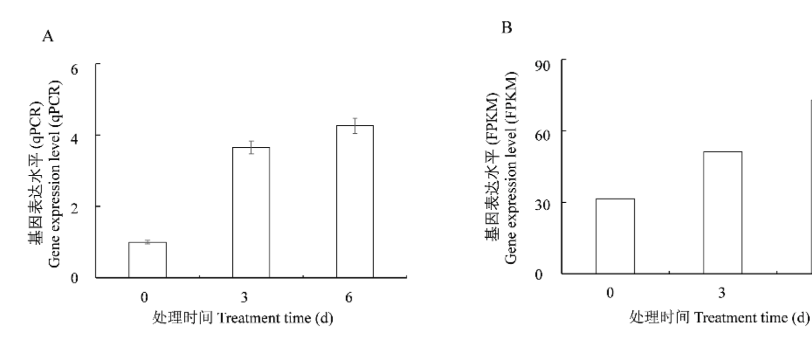
SP1 GA-motif CRM

图 2 *DcWD40-1* 启动子序列及主要调控元件

Fi g.2 Promoter sequence of *DcWD40-1* and main regulatory elements

2.4 *DcWD40-1* 在血竭诱导剂处理下的表达

无机盐能够诱导血竭的产生，并上调类黄酮积累相关基因的表达。因此，本研究检测了*DcWD40-1*在无机盐处理下的表达特征。定量 PCR结果显示，在无机盐诱导3 d和6 d后，*DcWD40-1*的表达量分别上调1.6倍和2.5倍(图3：A)；在先前的转录组数据中，无机盐诱导3 d和6 d后，*DcWD40-1*的RPKM值比对照分别提高3.6倍和6.8倍 (图3：B)。上述结果说明血竭诱导剂能够诱导*DcWD40-1*的表达。



注: **A**. 以qPCR 为基础的表达分析；**B**. 以FPKM 值为基础的表达分析。

Note: **A**. Expression analysis based on qPCR; **B**. Expression analysis based on FPKM values.

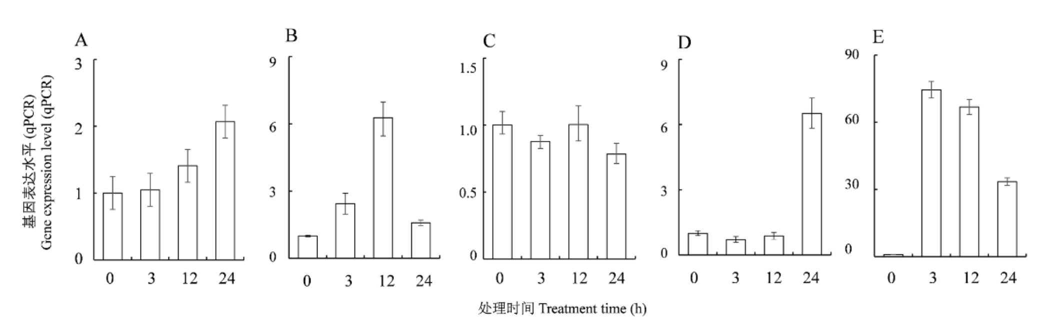
图3 *DcWD40-1*在血竭诱导剂处理下的表达

Fi g.3 Expressions of *DcWD40-1* in response to the inducer of dragon’s blood

2.5 *DcWD40-1*在胁迫处理下的表达

植物激素和光照在类黄酮次生代谢物形成中具有重要的调控作用。因此，本研究检测了

*DcWD40-1*对激素MeJA、CTK、ABA、和BR，以及UV-B胁迫的响应特征。qPCR结果显示，除了ABA外（图4：C)，其他5种处理均能诱导*DcWD40-1*的表达，其中MeJA和BR处理下，表达最高点均在处理后24 h，分别是正常水平的2.1倍和6.5倍（图4：A，D)；CTK处理下，表达最大值是处理后12 h，上调6.2倍（图4：B)；*DcWD40-1*对UV-B响应积极，处理后3 h表达量就达到高点，是对照的74.5倍（图4：E)。



注: **A**. MeJA处理；**B**. CTK处理；**C**. ABA处理；**D**. BR处理; **E**. UV-B处理。

Note: **A**. MeJA treatment; **B**. CTK treatment; **C**. ABA treatment; **D**. BR treatment; **E**. UV-B treatment.

图4 *DcWD40-1*在不同胁迫处理下的表达

Fi g.4 Expressions of *DcWD40-1* under different stress treatments

3 讨论

WD40重复蛋白是一类古老的蛋白家族，结构高度保守，其广泛参与植物的生长发育过程，如信号转导，细胞分裂、基因表达调节、蛋白质泛素化、组蛋白甲基化、基因组稳定性以及细胞周期调控等过程（Xu & Min 2011)。已有研究发现WD40 蛋白与植物类黄酮积累量密切相关(Xu et al, 2015)。首个参与类黄酮代谢调控的WD40基因是矮牵牛*PhAN11*(De et al, 1997)，随后在多个植物中鉴定了类黄酮合成相关的WD40类转录因子。WD40 蛋白通常与MYB和bHLH转录因子互作形成MBW复合体协同调控类黄酮生物合成。在MBW 转录复合体中，具有DNA 结合特性的为MYB 和bHLH 成员。WD40转录因子大多没有可以识别的顺式作用元件，也没有任何催化活性，其功能在于稳定蛋白互作，增强伙伴的基因活性（Xu et al, 2014; Xu et al, 2015)。WD40转录因子虽然不能直接调控类黄酮合成结构基因的表达，但已在多种植物中证实通过表达WD40基因能显著提高转基因植株中的类黄酮含量（Yao et al, 2017; Gao et al, 2018)，这说明WD40转录因子在类黄酮积累中具有重要的调控作用。

本研究在海南龙血树中获得一个编码WD40转录因子的基因*DcWD40-1*，该基因编码蛋白具有植物WD40蛋白的典型结构特征，包含5个WD40重复基序。FPKM值和q-PCR分析结果均显示无机盐诱导剂能够上调海南龙血树*DcWD40-1* 基因的表达，*DcWD40-1*的变化与血竭形成及类黄酮积累正相关(Zhu et al, 2016)，说明其在类黄酮生物合成过程中可能具有重要

的功能。长期以来，黄酮类化合物一直被认为是一种保护植物组织免受紫外线危害的化学物质；光照尤其是紫外辐射能够诱导植物体内类黄酮的积累和相关基因的表达(Petrussa et al, 2013)。目前已证实茉莉酸、脱落酸、细胞分裂素和油菜素内酯等植物激素在类黄酮生物合成中具有重要的调控作用(De et al, 2012; Yun et al, 2015; Xin et al, 2017 Koyama et al, 2018)。6-苄氨基腺嘌(6-BA)，一种人工合成的细胞分裂素，能促进海南龙血树组培苗血竭形成和诱导类黄酮合成相关基因表达(杨本鹏等, 2009; Wang et al, 2015)。本研究发现*DcWD40-1*启动子区存在1个茉莉酸响应元件CGTCA- motif、4个CTK响应元件CMR以及众多的光响应元件，如3-AF1 binding site、ATCC-motif、 ATCT-motif、Box I、GA-motif、G-box SP1、GT1-motif等。表达分析进一步证实MeJA、CTK、BR和UV-B能够显著上调*DcWD40-1*的表达，这说明*DcWD40-1*可能通过MeJA、CTK、BR和UV-B信号途径参与对类黄酮生物合成的调控。下一步，我们将继续对 *DcWD40-1*的功能和表达调控特征进行深入研究，为通过转基因或激素及化学调控等方式改变*DcWD40-1*的表达来提高海南龙血树中类黄酮含量奠定基础。

参考文献：

AN XH, TIAN Y, CHEN KQ, et al, 2012, The apple WD40 protein MdTTG1 interacts with bHLH but not MYB proteins to regulate anthocyanin accumulation [J]. J Plant Physiol, 169(7):710–717.

BAUDRY A, HEIM MA, DUBREUCQ B, et al, 2004. *TT2*, *TT8*, and *TTG1* synergistically specify the expression of *BANYULS* and proanthocyanidin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 39(3):366–380

BENSIMHON Z, JUDEINSTEIN S, NADLERHASSAR T, et al, 2011. A pomegranate (*Punica granatum* L.) WD40-repeat gene is a functional homologue of Arabidopsis TTG1 and is involved in the regulation of anthocyanin biosynthesis during pomegranate fruit development [J]. Planta, 234(5):865–881.

CHEN HQ, ZUO WJ, WANG H, et al, 2012. Two new antimicrobial flavanes from dragon’s blood of *Dracaena cambodiana* [J]. J Asian Nat Prod Res, 14(5):436–440.

DE GN, GHOLAMI A, GOORMACHTIG S, et al, 2012. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism [J]. Trends Plant Sci, 17(6):349–359.

DE NV, QUATTROCCHIO F, MOL J, et al, 1997. The an11 locus controlling flower pigmentation in petunia encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants, and animals [J]. Genes Dev, 11(11):1422–1434.

GAO Y, LIU J, CHEN Y, et al, 2018. Tomato SlAN11 regulates flavonoid biosynthesis and seed dormancy by interaction with bHLH proteins but not with MYB proteins [J]. Hortic Res, 5:27.

GUPTA D, BLEAKLEY B, GUPTA RK, 2008. Dragon’s blood: botany, chemistry and therapeutic uses [J]. J Ethnopharm, 115(3):361–380.

KOYAMA R, ROBERTO SR, DE RS, et al, 2018. Exogenous abscisic acid promotes anthocyanin biosynthesis and increased expression of flavonoid synthesis genes in *Vitis vinifera*×*Vitis labrusca* table grapes in a subtropical region[J]. Front Plant Sci, 9: 323.

LIU X, FENG C, ZHANG M, et al, 2013. The *MrWD40-1*, gene of chinese bayberry (*Myrica rubra*) interacts with MYB and bHLH to enhance anthocyanin accumulation [J]. Plant Mol Bio Rep, 31(6):1474–1484.

LUO Y, WANG H, ZHAO YX, et al, 2011. Cytotoxic and antibacterial flavonoids from dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. Planta Med, 77(18):2053–2056.

MEI WL, LUO Y, WANG H, et al, 2013. Two new flavonoids from dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. Bull Korean Chem Soc, 34(6):1791–1794.

NAVAL MDM, GIL-MUÑOZ F, LLORET A, et al, 2016. A WD40-repeat protein from persimmon interacts with the regulators of proanthocyanidin biosynthesis DkMYB2 and DkMYB4 [J]. Tree Genet Genomes, 12(1):1–11.

PETRUSSA E, BRAIDOT E, ZANCANI M, et al, 2013. Plant flavonoids–biosynthesis, transport and involvement in stress responses [J]. Int J Mol Sci, 14(7):14950–14973.

TOHGE T, DE LS, FERNIE AR, 2017. Current understanding of the pathways of flavonoid biosynthesis in model and crop plants [J]. J Exp Bot, 68(15):4013–4028.

WANG H, JIANG HM, LI FX, et al, 2017. Flavonoids from artificially induced dragon's blood of *Dracaena cambodiana* [J]. Fitoterapia, 121(1):1–5.

WANG JY, DAI HF, LI HH, et al, 2015. Molecular and functional characterization of the chalcone synthase gene (*DcCHS1*) promoter in response to hormones [J]. Plant Omics, 8:398–404.

WANG XH, GONG M, TANG L, et al, 2013. Cloning, bioinformatics and the enzyme activity analyses of a phenylalanine ammonia-lyase gene involved in dragon’s blood biosynthesis in *Dracaena cambodiana* [J]. Mol Biol Rep 40:97–107.

WANG XH, ZHANG CH, YANG LL, et al, 2011. Production of dragon's blood in *Dracaena cochinchinensis* plants by inoculation of *Fusarium proliferatum* [J]. Plant Sci 180(2):292–299.

XIN L, LAN Z, AHAMMED GJ, et al, 2017. Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced flavonoid biosynthesis in *Camellia sinensis* L [J]. J Plant Physiol, 2017, 214:145–151.

Xu C, Min J, 2011. Structure and function of WD40 domain proteins [J]. Protein Cell, 2011, 2(3):202–214.

XU W, DUBOS C, LEPINIEC L, 2015. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes [J]. Trends Plant Sci, 20(3):176–185.

XU W, GRAIN D, BOBET S, et al, 2014. Complexity and robustness of the flavonoid transcriptional regulatory

network revealed by comprehensive analyses of MYB-bHLH-WDR complexes and their targets in *Arabidopsis* seed [J]. New Phytol, 202(1):132–144.

YANG BP, ZHANG SZ, CAI WW, et al, 2009. Induced formation of dragon’s blood in the process of tissue culture of Cambodia dragon blood (*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep) [J]. Chin J Trop Crops, 30(2):181–185. [杨本鹏，张树珍，蔡文伟，等，2009. 海南龙血树组织培养过程中血竭形成的诱导[J]. 热带作物学报, 30(2):181–185.]

YAO P, ZHAO H, LUO X, et al, 2017. *Fagopyrum tataricum* FtWD40, functions as a positive regulator of anthocyanin biosynthesis in transgenic tobacco [J]. J Plant Growth Regul, 36(3):1–11.

YUAN LB, PENG ZH, ZHI TT, et al, 2015. Brassinosteroid enhances cytokinin-induced anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis, seedlings [J]. Biol Plantarum, 59(1):99–105.

ZHENG DJ, XIE LS, WANG Y, et al, 2009. Research advances in dragon’s blood plants in China [J]. Chin Wild Plant Res, 28:15–20.[郑道君，谢良商，王盈，2009，等. 中国血竭基源植物的研究与利用 [J]. 中国野生植物资源, 28(6):15-20.]

ZHENG QA, SAITO Y, MATSUO Y et al, 2012. Flavonoid oligomers from Chinese dragon’s blood, the red resins of *Dracaena cochinchinensis* [J]. Nat Prod Bioprospect, 2(3):111–116.

ZHU JH, CAO TJ, DAI HF, et al, 2016. *De Novo* transcriptome characterization of *Dracaena cambodiana* and analysis of genes involved in flavonoid accumulation during formation of dragon's blood [J]. Sci Rep, 6:38315.